Potensi Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) untuk Pengendalian Bakteri *Vibrio harveyi* Penyebab Penyakit pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

The Potency of Ethanol Extracts of Black Cumin (*Nigella sativa*) to Control *Vibrio harveyi* Causing Disease in Vannamei Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Linianti¹⁾, Indriyani Nur^{2*)}, Maulidiyah³⁾, dan Yusnaini²⁾

¹⁾Mahasiswa Program Studi Magister Ilmu Perikanan Pascasarjana Univ. Halu Oleo

²⁾Fak Perikanan dan Ilmu Kelautan Univ. Halu Oleo, ³⁾Fak Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univ Haluo Oleo

Corresponding author^{*)}: indri_noer@yahoo.com; liniantiridho@yahoo.co.id,

ABSTRACT

Research on the potential of the ethanol extract of black cumin seeds (EEBCS) have been conducted through *in vitro* and *in vivo* test. This study aimed to analyze the use of the EEBCS to inhibit the growth of bacteria *Vibrio harveyi*, and the ability of EEBCS as immunostimulant on white bacteria-infected shrimp *V. harveyi*. Testing of EEBCS to inhibit bacterial growth *V. harveyi* performed *in vitro* at concentrations of 2500, 5000, and 7500 ppm. The results obtained *in vitro* test showed that EEBCS can inhibit the growth of bacteria *V. harveyi* in all concentrations.

Keywords: *Black cumin seeds, Vibrio harveyi, in vitro, Litopenaeus vannamei.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis pemanfaatan ekstrak etanol biji jintan hitam untuk pencegahan bakteri *Vibrio harveyi* penyebab penyakit pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebagai penghambat tumbuh bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*. Hasil yang diperoleh pada uji *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji jintan hitam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan bersifat antibakterial terutama pada konsentrasi 2500, 5000, 7500 ppm.

Kata Kunci : ekstrak jintan hitam, *Vibrio harveyi, in vitro, udang vaname*

DOI: <http://dx.doi.org/10.33772/jsip.v1n1.xxxx>

PENDAHULUAN

Keunggulan udang vaname dibudidayakan yaitu pemeliharaan relatif singkat dapat mencapai ukuran konsumsi, mempunyai toleransi terhadap penurunan salinitas, relatif tahan penyakit, produktivitasnya tinggi, waktu pemeliharaan relatif singkat (90 hari), relatif tinggi kelangsungan hidup dan permintaan pasar terus meningkat (Luksrejo, 2008).

Budidaya udang vaname berkembang, namun berbagai kendala timbul seiring perkembangan budidaya pada tahap pembenihan maupun tahap

pembesaran, seperti serangan penyakit, menyebabkan terjadinya kematian. Penyakit pada budidaya udang vaname seperti infeksi bakteri, didominasi oleh bakteri jenis *Vibrio harveyi* dan serangannya dapat menyebar dalam waktu sangat cepat (Sukenda *et al.*, 2005). Bakteri ini merupakan genus *Vibrio* yang bersifat patogenik menyebabkan kematian sebesar 18-80% (Hoa *et al.*, 2006).

Upaya pencegahan penyakit infeksi bakteri dapat dilakukan dengan pemberian imunostimulan (Ridlo dan Rini, 2009). Imunostimulan tidak meninggalkan residu dan aman untuk lingkungan

(Marentek dan Manoppo, 2013). Jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah tanaman yang dapat dijadikan sebagai bahan imunostimulan (Dorucu *et al.*, 2009; Shewita *et al.*, 2011). Jintan hitam memiliki kemampuan antivirus (Zaher *et al.*, 2008); antifungi (Suthar, 2010), antibakteri (Hosseinzadeh *et al.*, 2007; Hannan *et al.*, 2008; Dorucu *et al.*, 2009) dan antiparasit (Ayaz *et al.*, 2007). Ekstrak jintan hitam juga terbukti mampu meningkatkan sistem imun non-spesifik dan spesifik (Balai Penelitian Obat dan Makanan, 2013).

Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh ekstrak biji jintan hitam terhadap imunostimulan dan pencegahan bakteri *V. harveyi* melalui pemberian ekstrak biji jintan hitam pada pakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* pada udang vaname yang terinfeksi bakteri *V. harveyi*

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juli tahun 2016 di Laboratorium Kimia Farmasi dan Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Halu Oleo Kendari.

Udang uji yaitu udang vaname yang berukuran berat ± 7 g sebanyak 150 ekor yang berasal dari tambak. Udang uji diberi pakan pelet komersil kandungan protein 30%, lemak 5%, serat kasar 5%, abu 13% dan kadar air 11%. Pakan dicampur dengan ekstrak biji jintan hitam dengan cara disemprotkan sebanyak dosis yang didapat dari dosis yang terbaik pada uji *in vitro* dan sebagai perekat ditambahkan putih telur sebanyak 2% (Zubaidah *et al.*, 2014). Pemberian pakan dilakukan sebanyak 4 kali sehari, yaitu pukul 07.00, 11.00, 15.00 dan 19.00. Pengeluaran kotoran-kotoran yang mengendap di dasar aquarium dengan cara airnya disifon setiap hari (pagi dan sore) sebanyak 10% air pada setiap aquarium, sebelum diberi pakan.

Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (Harborne, 1987)

Biji jintan hitam dicuci bersih dengan air, selanjutnya dikeringkan di udara terbuka (kering udara) tanpa terkena cahaya matahari langsung untuk menghindari kerusakan bahan aktif. Selanjutnya biji jintan dijadikan serbuk halus dengan cara dihaluskan dan diayak dengan saringan halus sehingga diperoleh simplisia.

Ekstraksi yang dilakukan yaitu, biji jintan hitam sebanyak 2900 g dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 72 jam, lalu difiltrasi dengan corong Buchner untuk memperoleh filtrat. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali, filtrat yang diperoleh kemudian disatukan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator vacum* pada suhu maksimal 50 °C hingga pelarut etanol menguap dan terbentuk ekstrak kental hitam, kemudian dituang ke dalam botol vial gelap, selanjutnya ditimbang total ekstrak yang diperoleh sebanyak 438 gram.

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam

Uji fitokimia untuk pemeriksaan kandungan metabolit sekunder yang dilakukan merupakan uji skrining kualitatif yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya (+/-) kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak murni biji jintan hitam. Pemeriksaan kandungan metabolit sekunder yang dilakukan, terdiri dari uji alkaloid, uji terpenoid, uji flavonoid, uji saponin dan uji tanin (Kristianti, *et al.*, 2008).

Uji *in vitro*

Uji *in vitro* untuk mengatati daya hambat bakteri dari ekstrak biji jintan hitam dan menentukan dosis terbaik sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Dosis terbaik yang didapatkan dari uji *in vitro* oleh Grandiosa (2010) adalah 5000 ppm. Penelitian menggunakan dosis berbeda yaitu 2500 ppm, 5000 ppm, 7500 ppm dan digunakan ke uji *in vivo*. Uji zona daya hambat dilakukan untuk mengetahui kemampuan biji jintan hitam sebagai pencegahan dengan menggunakan kertas cakram diameter 5 mm dibuat dari kertas saring Whatman No. 42 dan direndam dalam larutan ekstrak biji jintan hitam pada konsentrasi 2500 ppm, 5000 ppm, 7500 ppm, kontrol (-), kontrol (+) selama 24 jam.

Uji Aktivitas Hambat Tumbuh Bakteri (Lay, 1994; Trianto dkk., 2004)

Prosedur ini menggunakan metode Kirby-Bauer, ditunjukkan dengan adanya zona bebas/hambat di sekitar kertas cakram. Prosedur kerja : media (TCBS) disiapkan pada cawan petri, kemudian isolat *V. harveyi* sebanyak 10 ml kepadatan 10^6 CFU/ml diambil dari biakan murni yang telah diencerkan dalam larutan fisiologis Natrium Klorida (NaCl) 9 ml yang berfungsi sebagai pemisah bakteri. Bakteri kemudian disebar pada permukaan agar secara merata

menggunakan batang L glass. Kertas saring steril yang sebelumnya telah dibentuk bulat kecil yang masing-masing berdiameter 5 mm dicelupkan ke dalam larutan uji, selanjutnya *paper disc* diletakan pada permukaan media inokulasi dengan bantuan pinset. Bakteri diinkubasi dalam inkubator dengan suhu konstan 37 °C, lalu diamati setelah 24 jam. Diameter zona hambat lalu diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Perlakuan dan Rancangan Penelitian

Dosis yang digunakan ekstrak jintan hitam setiap perlakuan adalah dosis terbaik dari hasil uji *in vitro*. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan.

- Perlakuan K- : PBS (kontrol negatif).
Perlakuan K+ : Kloramfenikol(kontrol positif)
Perlakuan A : Konsentrasi ekstrak etanol biji jintan hitam 2500 ppm.
Perlakuan B : Konsentrasi ekstrak etanol biji jintan hitam 5000 ppm.
Perlakuan C : Konsentrasi ekstrak biji jintan hitam 7500 ppm.

Data hasil uji *in vitro* dianalisis menggunakan uji ANOVA, kemudian jika hasilnya berbeda nyata dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada selang kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak etanol biji jintan hitam yang dilakukan dengan metode *Brontrager* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak etanol biji jintan hitam

No	Uji senyawa	Hasil analisis
1	Alkaloid	++
2	Tanin/Polifenol	++
3	Quinon	++
4	Flavonoid	+
5	Terpenoid	+
6	Saponin	-

*Ket : Kuat (++), Lemah (+), Tidak ada (-)

Uji *in vitro* ekstrak biji jintan hitam terhadap bakteri *V. harveyi* disajikan pada pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji *in vitro* ekstrak etanol biji jintan hitam terhadap bakteri *V. harveyi*

Perlakuan (ppm)	Diameter Zona Hambat (cm)				Rata-Rata (cm)
	Ulangan				
	I	II	III	IV	
Akuades	0	0	0	0	0,00
Kloramfenikol	4,0	2,3	3,1	3,8	3,30
2500 ppm	1,6	1,4	1,7	1,3	1,50 ^a
5000 ppm	1,7	1,9	1,7	1,8	1,77 ^b
7500 ppm	1,9	2,1	2,4	2,1	2,12 ^c

*Ket : Ukuran *paper disc* 0,7 cm, (-) akuades, (+) kloramfenikol

Gambar 1. Uji zona daya hambat bakteri *V. harveyi* (Uji *in vitro*) Perlakuan A dengan konsentrasi 2500 ppm, Perlakuan B dengan konsentrasi 5000 ppm, Perlakuan C dengan konsentrasi 7500 ppm (Ket: Masing-masing perlakuan menunjukkan berbeda nyata).

Pembahasan

Uji *in vitro* ekstrak etanol biji jintan hitam terhadap bakteri *V. harveyi* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakterisidal. Aktivitas antibakterisidal tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya zona daya hambat di sekitar *paper disc* (Tabel 2). Ekstrak etanol biji jintan hitam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*, salah-satu penyebab penyakit pada udang.

Pada Tabel 2, rata-rata diameter zona hambat berkisar antara 0 – 4,0 cm. Kandungan biji jintan hitam adalah minyak volatil, terdiri dari *timokuinon*, *timohidrokuinon*, *ditimokuinon*, *timol*, dan *tannin* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan fungi (Mashhadian dan Rakhshandeh, 2005; Al-Jabre *et al.*, 2003). Aktivitas antibakterisidal dari ekstrak etanol biji jintan hitam tidak lebih besar dibandingkan dengan kontrol positifnya, yaitu

antibiotik kloramfenikol sebesar 30 ppm. Hal tersebut terjadi karena kloramfenikol merupakan senyawa murni. Mekanisme kerja pada senyawa yang terkandung pada bahan alami yaitu obat yang akan digunakan untuk pencegahan mikroba penyebab infeksi harus memiliki sifat toksisitas yang tinggi. Antibakteri menghambat sintesis dinding sel bakteri mempunyai lapisan luar sel yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang mempunyai tekanan osmotik internal tinggi. Rusaknya dinding sel (misal karena lisozim) atau inhibisi pada pembentukannya dapat menyebabkan sel menjadi lisis.

Berdasarkan hasil pengamatan, ekstrak etanol biji jintan hitam yang mempunyai rata-rata diameter zona daya hambat terbesar ditunjukkan pada kontrol positif (kloramfenikol) yaitu 4,0 cm dan berturut-turut diikuti konsentrasi perlakuan C 7500 ppm sebesar 2,4 cm, konsentrasi perlakuan B 5000 ppm sebesar 1,9 cm, konsentrasi perlakuan A 2500 ppm 1,7 cm dan konsentrasi terendah adalah kontrol negatif (PBS) 0 cm. Hasil penelitian menunjukkan berbeda nyata diameter zona hambat antara konsentrasi perlakuan A 2500, perlakuan B 5000, perlakuan C 7500 ppm. Secara visual zona daya hambat yang terbentuk pada kontrol (+), konsentrasi perlakuan A 2500 ppm, perlakuan B 5000 ppm, dan perlakuan C 7500 ppm. Beberapa penelitian yang menggunakan ekstrak etanol biji jintan hitam digunakan pula untuk menghambat pertumbuhan bakteri jenis lain, seperti *Shigella dysenteriae* (Wadud, 2014); *Escherichia coli* (Asniyah, 2009). Kemampuan efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* juga dikemukakan oleh Masri (2015) dengan diameter daerah bebas bakteri yang berbeda minyak jintan hitam memiliki efek antibakteri yang lebih baik dari cefoperazon yang digunakan sebagai kontrol pada pengujian terhadap *S. aureus*.

Minyak biji jintan hitam terbukti paling efektif melawan bakteri, Ansriyah (2009), meneliti efek antimikroba jintan hitam terhadap pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan pada konsentrasi 50%; 75% dan 100% terbentuk zona hambatan yang berbeda nyata secara statistik. Grandiosa (2010), membuktikan bahwa ekstrak biji jintan hitam efektif menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Berdasarkan penelitian di atas telah terbukti bahwa biji jintan hitam mempunyai

aktivitas antibakterial terhadap *Escherichia coli* dan *A. hydrophila*. Potensi jintan hitam sebagai antimikroba gram negatif.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol biji jintan hitam secara *in vitro* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan bersifat antibakterial pada konsentrasi 2500, 5000, 7500 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada staf pada Laboratorium Perikanan FPIK dan Laboratorium Kimia Farmasi UHO Kendari.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jabre, S., Al-Akloby, O.M., Al-Qurashi, A.R. 2003. Thymoquinone an Active Principle of *Nigella sativa*. Inhibited *Aspergillus niger*. *Pakistan Journal Medical Research*. 42 (3).
- Asniyah. 2009. Efek Antimikroba Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* in Vitro. *Jurnal Biomedika*. 1(1): 25-30.
- Ayaz, E., Yilmaz, H., Ozbek, H., Tas, Z., and Ozlem, O. 2007. Effect of *Nigella sativa* L. Oil on Rat-Peritoneum Macrophage Phagocyte Activity and Capacity. *Saudi Medical Journal*. 28: 1654-1657.
- Chang, C.C, Z.R Wu, C. M Kuo, and W. Cheng. 2007. Dopamine Depresses in the Tiger Shrimp *Penaeus Monodon*. *Fish and Shellfish Immunology*, 23: 24-33.
- Cheng W, Liu CH, Tsai CH, Chen JC. 2005. Molecular cloning and characterisation of a pattern recognition molecular, lipopolysaccharide- and beta-1,3-glucan binding protein (LGBP) from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 18: 297-310.
- Dorucu, M., Colak, S.O., Ispir, Altinterim, B., and Celayir, Y. 2009. The Effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the Immune Response of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal*. 2: 27-33.
- Hannan, A., Saleem, S., Chaudhary, S., and Muhammad, B. 2008. Antibacterial Activity of *Nigella sativa* Against Clinical Isolate of

- Methicillin Resistent *Staphylococcus aureus*. *Journal Ayub Medical Coll Abbottabad*. 20: 72-74.
- Hoa, T.T, D.T Hoang, and N.T Phuong. 2006. Study on disease in giant freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii*): A Review. *Department of Fisheries Biology, College of Aquaculture an Fisheries, Can Tho University* 1-7.
- Hosseinzadeh, S., Bazzaz, B.S., and Haghi, M.M. 2007. Antibacterial Activity of Total Extracts and Essential Oil of *Nigella sativa* L. Seeds in Mice. *Journal Pharmacolgy online*. 2: 429-435.
- Kristianti, A.N., Aminah, N.S, Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. Buku Ajar *Fitokimia*. Laboratorium Jurusan Kimia. Surabaya.
- Lo, C.F, J.L Wu, Y.S Chang, H.C Wang, J.M Tsai and G.H Kou. 2004. Molecular Characterization and Pathogenicity of White Spot Syndrome Virus. In: Leung, K.Y (ed.). *Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Disease*. *World Scientific Publishing*, Singapura.
- Luksrejo. 2008. *Jenis Penyakit Udang pada Budidaya Air Payau Kalitengah Lamongan*. Jawa Timur.
- Marentek, G.A., dan Manoppo, H. 2013. Evaluation of the Use of Garlic (*Allium sativum*) in Enhancing Non-specific Immune Responce and Growth of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Budidaya Perairan*. 1: 1-7.
- Mashhadian, N.V., and Rakhshandeh, H. 2005. Antibacterial and Antifungal Effects of *Nigella sativa* Extracts Against *S. aureus*, *P. aureginosa*, and *C. albicans*. *Pakistan Journal Medical Science*. 21(1): 47-52.
- Masri, M. Djamal, A. Putra, U.G. 2015. Uji Efek Antibakteri Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Dalam Kapsul yang Dijual Bebas Selama Tahun 2012 di Kota Padang Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara in Vitro. Pendidikan Dokter FK UNAND (Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang), Bagian Mikrobiologi Klinik FK UNAND, Bagian Kimia FK UNAND. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2015; 4(2) 387-391.
- Rey, A., N. Verjan, H. W. Ferguson, and C. Iregui. 2009. Patgogenesis of *Aeromonas hydrophila* Strainn KJ99 Infection and Its Extracellular Product in Two Species of Fish. *Veterinary Record* 164, pp. 493-499.
- Ridlo, A., dan Rini, P. 2009. Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Imunostimulan Sistem Pertahanan Non-spesifik pada Udang (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*. 14: 133-137.
- Sakai, M. 1999. Current Research Status of Fish Imunostimulants. *Journal Aquaculture*, 172(1-2):63-92.
- Soderhall, K and L. Cerenius. 1992. Crustacean Immunity. *Annual Review of Fish Disease*, 2:2-23.
- Sukenda, Sihombing, A.J., Novianti, F., dan Widanarni. 2005. Penapisan Bakteri Probiotik dan Peranannya Terhadap Infeksi Buatan *Vibrio harveyi* pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 4(2): 181-187.
- Suthar, M.P., Patel, P.N., Shah, T.G., and Patel, R.K. 2010. In Vitro Screening of *Nigella sativa* Seeds for Antifungal Activity. *Journal Pharmaceutical and Applied Sciences*. 1: 86-91.
- Shewita, R.S., and Thaha, A.E. 2011. Effect of Dietary Supplementation of Different Levels of Black Seed (*Nigella sativa* L.) on Growth Performance, Immunological, Hematological and Carcass Parameters of Broiler Chicks. *Journal Word Academy of Science Engineering and Technology*. 53: 788-794.
- Wadud, S.A. 2014. *Uji Efektivitas Ekstrak Biji Jintan Hitam (Nigella sativa) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella dysenteriae*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. 61 hal.
- Zaher, K.S., Ahmad, W.M., and Zerizer, S.N. 2008. Observation on The Biological Effects of Black Cumin Seed (*Nigella sativa*) and Green Tea (*Camellia sinensis*). *Journal Global Veterinary*. 2: 198-204.
- Zubaidah, A., Yuhana, M., Widanarni. 2014. Penambahan Mikrokapsul Sinbiotik dengan Dosis Berbeda untuk Menanggulangi Infeksi *Vibrioharveyi* pada Pakan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Hayati Journal of Biosciences*.